

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.11.010

独立C线改进的试纸条快速稳定检测沙丁胺醇

彭妞妞, 陈伟, 陈琦, 王杭, 屈玮, 杨晴丽

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:沙丁胺醇作为瘦肉精的一种,最终会通过食物链对人体造成危害,因此,需要一种便捷、快速的方法用于现场检测。文章在传统胶体金免疫侧向层析的基础上提出一种独立C线的检测方法,该方法引入独立C线抗原和独立C线抗体,避免了传统试纸条中C线、T线之间存在竞争的情况。对该试纸条进行优化后,与传统试纸条体系相比,稳定性更高。检测结果表明,该试纸条对沙丁胺醇的检测限为 $5.0 \mu\text{g/L}$,且仅需5 min即可完成检测,在食品安全监测应用中具有可靠、快速现场检测沙丁胺醇的潜力。

关键词:沙丁胺醇;独立C线;现场快速检测;稳定性

中图分类号:TS207.3

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2025)11-1501-07

Independent C line modified test strips for rapid and stable salbutamol detection

PENG Niuniu, CHEN Wei, CHEN Qi, WANG Hang, QU Wei, YANG Qingli

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: Salbutamol, a form of lean meat powder, can eventually harm people through the food chain. Therefore, a convenient and rapid method is needed for field detection. This paper presents an independent C line method based on traditional colloidal gold immunolateral chromatography, which introduces independent C line antigen and independent C line antibody. The competition between C and T lines in the traditional test strips is avoided. Compared with the traditional test strip system, the stability of the optimized test strip is higher. The detection limit of salbutamol on the test strip is $5.0 \mu\text{g/L}$, and the method only takes 5 min, which has the potential for reliable and rapid field detection of salbutamol in food safety monitoring applications.

Key words: salbutamol; independent C line; point-of-care testing; stability

沙丁胺醇(SAL)是 β -肾上腺素激动剂(β -adrenergic agonists)的一种,常用于治疗呼吸系统疾病和哮喘^[1]。它和莱克多巴胺(RAC)、克伦特罗(CL)等同属于小分子兽药,统称为瘦肉精,可以促进脂肪分解、增加蛋白质的合成,进而可以用于增加猪肉和牛肉的瘦肉率。因此,近年来,常被不法分子用于畜牧业,以此来提高饲料转化率^[2-3]。由于这些兽药的广泛使用,长期的使用会在动物体内不断堆累,最终通过食物链对人们的身体健康造成危害,出现头晕、心动过速、四肢肌

肉颤动等问题^[4-5]。出于健康考虑,许多兽药的使用严格受到限制,甚至在大多数国家内被禁止使用^[6-7]。

目前,常用的 β -激动剂检测方法有高效液相色谱、气相色谱、酶联免疫吸附等,这些方法具备高灵敏度、高可靠性的优点,但同时也存在耗时长、操作复杂等问题^[8-9]。沙丁胺醇相较于其他 β -激动剂是较难检测到的,因此,为了保障食品安全,开发一种简便、易操作的技术适用于现场快速检测沙丁胺醇是至关重要的。

收稿日期:2023-08-10;修回日期:2023-08-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32172295)

作者简介:彭妞妞(1999—),女,安徽阜阳人,合肥工业大学硕士生;

陈伟(1982—),男,江苏海安人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师;

屈玮(1979—),男,山东东平人,博士,合肥工业大学副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:2009800064@hfut.edu.cn.

免疫层析试纸条是一种进行现场快速筛查的流行工具,因其具有可接受的灵敏度、方便快捷、成本低而应用广泛,可用于检测各种生物标志物,如尿液、血液、汗液、唾液等。随着横向流动分析(lateral flow assay, LFA)在人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)妊娠检测中的成功应用,这种检测工具已被用于传染病预防、食品和环境监测等^[10-13]各种重要领域。

在传统胶体金免疫层析试纸条中,结合垫上胶体金偶联的抗体一部分与 T 线上的包被原结合,另一部分与 C 线上的羊抗鼠或羊抗兔二抗结合,会导致 C 线与 T 线之间存在竞争关系,出现 C 线强 T 线弱或者 C 线弱 T 线强的情况,无法使 C 线保持一致的信号强度,从而可能使试纸条批间差较大。从文献^[14]的胶体金试纸条图可以明显看到 C 线与 T 线之间存在竞争性,导致 C 线强度不一致,这是由于 C 线、T 线都与目标物抗体结合而引起的,即使使用其他探针分子也会存在相同的情况,如 PBNPs(普鲁士蓝)、CINPs(墨鱼墨水)^[15-16]。

因此,本文引入了独立 C 线抗原和独立 C 线抗体,将独立 C 线抗原喷于 C 线上,该抗原会与胶体金偶联的独立 C 线抗体结合,而不与胶体金偶联的目标物抗体结合,从而使得 C 线与 T 线之间相互独立,且 C 线不会受目标物质量浓度影响,从而提高试纸条检测的稳定性。且该试纸条仅在 5 min 内就能检测到沙丁胺醇是否存在,满足了现场即时检测需求。

1 主要试剂与仪器

1.1 主要试剂

氯金酸购于百灵威科技有限公司;柠檬酸三钠(Na_3Cit)、碳酸钾(K_2CO_3)、海藻糖、吐温-20、曲拉通 X-100、聚乙二醇(PEG)20000、聚乙二醇(PEG)6000、1 mol/L pH 值 8.0 Tris-HCl、磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)和磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)均购于国药集团化学试剂有限公司;牛血清蛋白(BSA)、酪蛋白钠(Casein-Na)均购于北京拜尔迪生物技术有限公司;沙丁胺醇抗体、沙丁胺醇包被原均购于天津康利缘生物工程有限公司;沙丁胺醇标准品购于中国标物网;羊抗鼠二抗购于杭州贤至科技生物有限公司;C 线抗原、C 线抗体均购于长沙美牛生物科技有限公司;硝酸纤维素(nitrocellulose filter, NC)膜、吸水垫、玻璃纤维膜、聚氯乙烯 PVC 底板和表

面活性剂 S9 均购于上海捷宁科技生物有限公司。

1.2 主要仪器

实验所用仪器有:划膜喷膜仪(美国伯乐公司);试纸切条机(美国伯乐公司);加热磁力搅拌器(广州仪科实验室技术有限公司);电子分析天平(上海精天电子仪器有限公司);电热恒温鼓风干燥箱(上海三发科学仪器有限公司);低温高速离心机(德国贺利氏公司);微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器厂有限公司);移液器(芬兰雷勃公司);美的电冰箱(美的集团);Nanodrop 紫外核酸检测仪(基因有限公司)。

2 实验方法

2.1 胶体金的制备

本文采用柠檬酸三钠还原法制备胶体金。将 250 mL 锥形瓶和转子在王水中浸泡 3 d,用超纯水冲洗干净,倒入 1/2 超纯水,将转子转速调至 1 500 r/min,在 310 °C 下煮沸倒出,重复 5 次。

在锥形瓶中加入 160 mL 水、2.55 mL 5 g/L 的氯金酸,放于磁力搅拌器上,打开转速调至 1 200 r/min,并在 310 °C 下加热,待转子稳定运行后关闭转速。等到溶液微沸时打开转速,并迅速加入 2.25 mL 1% 柠檬酸三钠溶液,溶液变为灰黑色,后是紫红色,待颜色稳定后关闭热源,再搅拌 5 min 后关闭转速。冷却至室温后,放入 4 °C 冰箱保存备用。

2.2 胶体金与独立 C 线抗体的偶联

在 1.5 mL 离心管中加入 500 μL 上述制备的胶体金溶液,再加入 10 μL 0.1 mol/L K_2CO_3 去调节溶液的 pH 值,涡旋混匀;加入 3 μL 1 mg/mL 独立 C 线抗体,混匀,于室温下孵育 1 h,加入 50 μL 10% BSA,混匀后孵育 30 min;然后在 8 600 r/min、4 °C 下离心 10 min,将上清弃掉;加入 50 μL 的重悬液(1 mmol/L pH 值 8.0 Tris-HCl、1% BSA、0.25% PEG20000、10% 蔗糖)进行重悬,得到胶体金-独立 C 线抗体偶联物。

2.3 胶体金与沙丁胺醇抗体的偶联

在 1.5 mL 离心管中加入 500 μL 上述制备的胶体金溶液,再加入一定量 0.1 mol/L K_2CO_3 调节溶液的 pH 值,涡旋混匀;加入 3 μL 1 mg/mL 沙丁胺醇抗体,混匀,于室温下孵育 1 h,加入 50 μL 封闭剂,混匀后孵育 30 min。然后在 8 600 r/min、4 °C 下离心 10 min,将上清弃掉,加入 50 μL 0.5% Casein-Na 进行重悬,得到胶体金-沙丁胺醇抗体偶联物,与上述的胶体金-独立 C 线抗体偶

联物滴加在同一个结合垫上,置于 37 °C 烘箱中,烘干备用。

2.4 胶体金试纸条的制备

试纸条由底板、样品垫、结合垫、NC 膜、吸水垫 5 个部分组成。首先将独立 C 线抗原、沙丁胺醇包被原用 10 mmol/L pH 值 7.4 磷酸缓冲液 (PB) 溶液稀释至 1 mg/mL; 然后分别喷涂在 NC 膜上作为 C 线和 T 线,将喷好的膜置于 37 °C 烘箱中烘干备用;最后,将 NC 膜、样品垫、吸水垫贴在底板上,用切条机切成 3 mm 备用。

2.5 偶联实验的参数优化

2.5.1 碳酸钾添加量的优化

碳酸钾用于调节溶液的 pH 值,当胶体金溶液 pH 值接近或稍大于蛋白质等电点时,金纳米粒子与抗体吸附程度最大。pH 值过低时,胶体金溶液容易发生聚集,无法与抗体结合;pH 值过高时,抗体带负电荷与金纳米粒子电荷相斥,结合能力会有所下降。因此需要一个合适的 pH 值,使抗体与金纳米粒子结合能力较强,又不会使金纳米粒子聚集。本实验中 0.1 mol/L K_2CO_3 的添加量为 3、5、7、10 μL ,根据试纸条结果确定最佳添加量。

2.5.2 滴垫量的优化

将胶体金-独立 C 线抗体偶联物和胶体金-沙丁胺醇抗体偶联物滴加在同一个结合垫上,两者的滴垫量过少会导致 T 线太浅而不具可靠性,过多会导致 NC 膜背景不干净和 T 线信号强度过饱和,而一个结合垫上承载的滴垫量是一定的,因此需要平衡两者各自的滴垫量。本实验中采用的胶体金-独立 C 线抗体偶联物和胶体金-沙丁胺醇抗体偶联物的滴垫量分别设为 2 μL +2 μL 、2 μL +3 μL 、3 μL +2 μL 、3 μL +3 μL ,根据试纸条结果确定最佳滴垫量。

2.5.3 封闭剂的优化

加入封闭剂的目的是封闭胶体金上未与抗体结合的位点以防产生非特异性吸附,从而影响结果的准确性。本实验中选择的封闭剂是 10% BSA、0.5% 酪蛋白 (Casein)、0.5% Casein-Na、10% PEG6000,根据试纸条结果确定最佳封闭剂。

2.5.4 上样液的优化

上样液的成分影响金标抗体的活性大小,进而影响偶联物与目标物和包被原的结合,本实验选择的上样液有 1×PBS、Running buffer、1 mol/L pH 值 8.0 Tris-HCl、0.05 mol/L pH 值 8.2 硼酸 (BB),根据试纸条结果确定最佳上样液。

2.5.5 试纸条灵敏度的检测

根据上述最优试纸条,本实验取不同质量浓度的沙丁胺醇 (0、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、5.0、7.0 $\mu g/L$),分别取 60 μL 进行上样,5 min 后观察结果,并建立标准曲线。

2.5.6 试纸条稳定性的检测

分别选择 0、1.0、10.0 $\mu g/L$ 的沙丁胺醇测试羊抗鼠二抗体系和上述独立 C 线体系试纸条的批间差,分别取 60 μL 进行上样,5 min 后观察结果。每个质量浓度测试 1 次,计算相应试纸条的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 值。

2.5.7 试纸条特异性的检测

为了证明该试纸条只对沙丁胺醇具有响应,选取了猪尿中其他可能存在的一些兽药进行检测,1×PBS 作为阴性对照,分别取 60 μL 进行上样,5 min 后观察结果。

2.5.8 试纸条实际样品的检测

用尿样作为阴性对照,并稀释成不同质量浓度 (0、0.5、1.0、3.0、5.0、10.0 $\mu g/L$) 的沙丁胺醇尿样,分别取 60 μL 进行上样,5 min 后观察结果。

3 结果与分析

3.1 试纸条检测原理

沙丁胺醇试纸条快速检测原理如图 1 所示。传统试纸条体系中,当样品中不含沙丁胺醇时,胶体金偶联的沙丁胺醇抗体会与 T 线上的包被原结合,也会与 C 线上的二抗结合,因此 2 条线都显红色,即为阴性,从而导致 T 线和 C 线之间存在竞争,在阴性和阳性条件下,C 线信号强度会不一致。而在独立 C 线体系中,胶体金分别与独立 C 线抗体、沙丁胺醇抗体偶联制成胶体金抗体偶联物,C 线上喷涂独立 C 线抗原,T 线上依然喷涂沙丁胺醇包被原,建立小分子竞争型免疫层析试纸。当样品中不含沙丁胺醇时,胶体金-沙丁胺醇抗体会与 T 线上的包被原结合,胶体金-独立 C 线抗体与 C 线上的独立 C 线抗原结合,因此 2 条线都显红色,即为阴性;当样品中含有沙丁胺醇时,胶体金-沙丁胺醇抗体会与样品中的沙丁胺醇结合,与 T 线上的包被原结合得较少甚至不结合,胶体金-独立 C 线抗体依然与 C 线上的独立 C 线抗原结合,C 线显色,T 线变浅甚至不显色,即为阳性。因此在此体系中,C 线在阴性和阳性条件下会保持一致的信号强度。

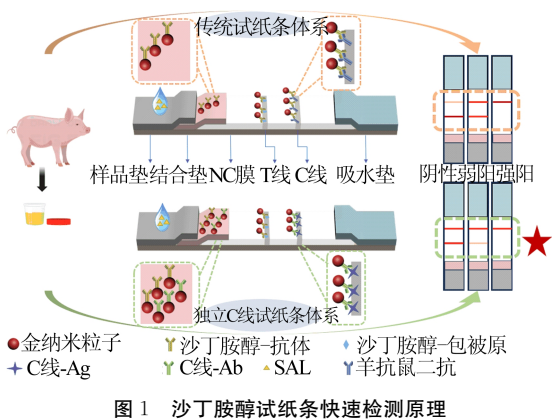


图 1 沙丁胺醇试纸条快速检测原理

3.2 胶体金以及与抗体偶联表征结果

采用 Nanodrop 紫外核酸检测仪对胶体金及其与 C 线抗体和沙丁胺醇抗体偶联后在 260、280 nm 处的吸光度进行检测,结果如图 2a 所示。由图 2a 可知,偶联后由于抗体的加入使得吸光度值升高,说明抗体偶联成功。Zeta 电位分析仪对胶体金偶联前和偶联后的分析结果如图 2b 所示,由图 2b 可知,胶体金在偶联抗体之后,Zeta 电位升高,这是由于抗体吸附在金上,增加了金的电势值,说明胶体金与抗体偶联成功。

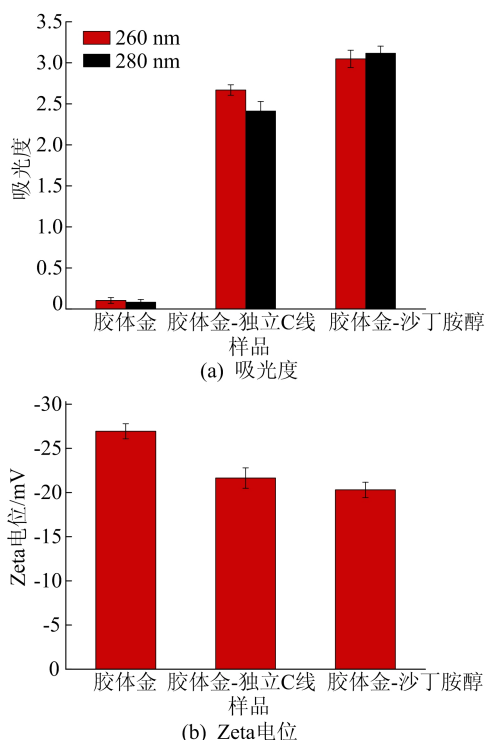


图 2 胶体及其与抗体偶联后的吸光度和 Zeta 电位

3.3 碳酸钾添加量的选择

碳酸钾添加量(即 pH 值)的大小影响着胶体金与抗体的结合,合适的 pH 值可以提高试纸的

灵敏度。本实验选择不同体积的 0.1 mol/L K_2CO_3 作为考察量,分析当沙丁胺醇上样质量浓度为 0、0.5、1.0、2.0 $\mu\text{g/L}$ 时磷酸钾添加量的优化结果,如图 3 所示。由图 3 可知, K_2CO_3 的体积为 3、5 μL 时,T 线过深导致阴阳没区别,10 μL 时出线又太浅,因此,选择 7 μL 作为磷酸钾的最适添加量。

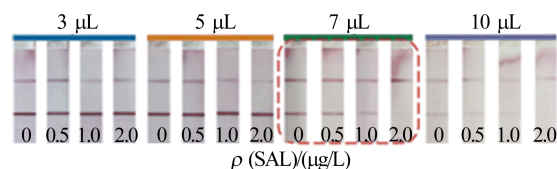


图 3 碳酸钾添加量的优化结果

3.4 滴垫量的选择

滴垫量的大小直接影响着试纸出线的深浅和 NC 膜背景的干净程度,本实验以胶体金-独立 C 线抗体偶联物和胶体金-沙丁胺醇抗体偶联物的滴垫量为考察量,分析当沙丁胺醇上样质量浓度为 0、1.0、2.0 $\mu\text{g/L}$ 时滴垫量的优化结果,如图 4 所示。

由图 4 可知:胶体金独立 C 线抗体偶联物和胶体金沙丁胺醇抗体偶联物的滴垫量为 2 μL +2 μL 时,因为偶联物太少导致溶液在层析过程中没有足够的金标抗体与 C 线、T 线上的独立 C 线抗原和沙丁胺醇包被原结合,所以会出线不均一;滴垫量为 2 μL +3 μL 时,C 线出线不均一;滴垫量为 3 μL +2 μL 时,T 线出线不均一;滴垫量为 3 μL +3 μL 时,C、T 线出线均一且相对较深,阴阳区分明显。因此,选择 3 μL +3 μL 作为最适滴垫量。

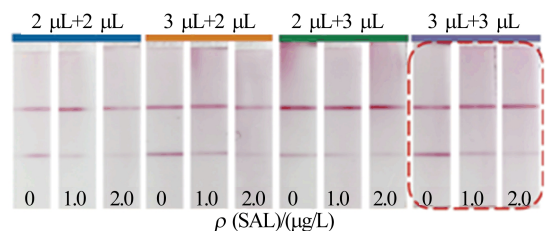


图 4 滴垫量的优化结果

3.5 封闭剂的选择

合适的封闭剂可以有效消除胶体金表面的非特异性吸附,本实验选择了 10% BSA、0.5% Casein、0.5% Casein-Na、10% PEG6000 作为考察项,分析当沙丁胺醇上样质量浓度为 0、1.0、2.0 $\mu\text{g/L}$ 时封闭剂的优化结果,如图 5 所示。由

图 5 可知,10% BSA 作为封闭剂时,NC 膜最干净,且阴阳对比较为明显。因此,选择 10% BSA 作为最适封闭剂。

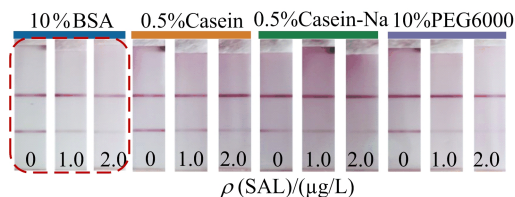


图 5 封闭剂的优化结果

3.6 上样稀释缓冲液的选择

不同的上样稀释缓冲液中离子浓度、pH 值都不同,而这些因素会影响金标抗体与目标物和包被原的结合。本实验选择了 1×PBS、Running buffer、1 mol/L pH 值 8.0 Tris-HCl、0.05 mol/L pH 值 8.2 BB 作为考察项,分析当沙丁胺醇上样质量浓度为 0、2.0 μg/L 时上样稀释缓冲液的优化结果,如图 6 所示。由图 6 可知:Running buffer 和 0.05 mol/L pH 值 8.2 BB 作为上样稀释缓冲液时,阴阳有区别但灵敏度较低;1 mol/L pH 值 8.0 Tris-HCl 作为上样稀释缓冲液时,T 线太浅导致阴阳没区别;1×PBS 作为上样液时,出线完整,且阴阳对比明显。因此选择 1×PBS 作为最适上样稀释缓冲液。

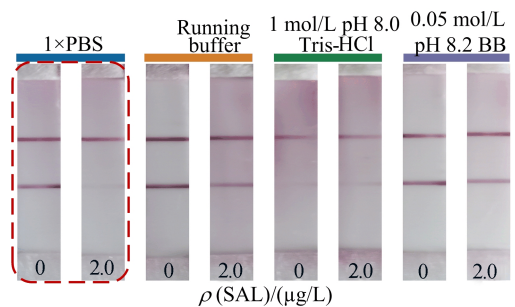


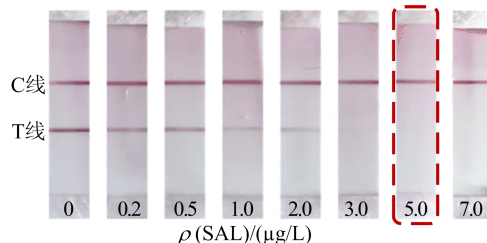
图 6 上样稀释缓冲液的优化结果

3.7 灵敏度结果分析和标准曲线建立

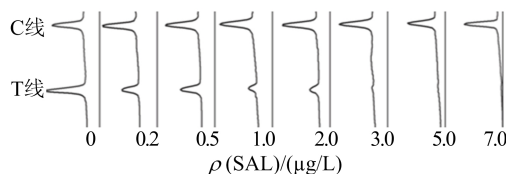
由上述最优条件下的试纸对沙丁胺醇进行灵敏度分析,结果如图 7a 所示。从图 7a 可以看出:随着沙丁胺醇质量浓度的升高,T 线逐渐变浅直至消失;当沙丁胺醇质量浓度为 0.2 μg/L 时,T 线强度与阴性对比明显,当质量浓度达到 5.0 μg/L 时,T 线完全消失。

使用 ImageJ 对试纸条进行灰度扫描得到峰值面积,如图 7b 所示,可以看出,随着沙丁胺醇质量浓度升高,峰值面积逐渐变小,沙丁胺醇质量浓

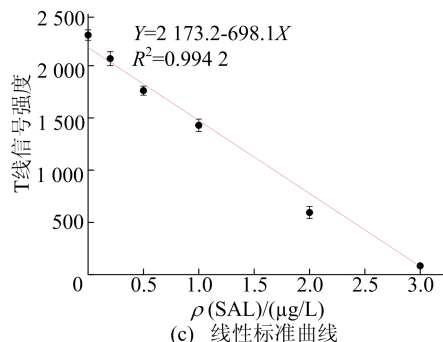
度为 5.0 μg/L 时峰值面积为 0,这与试纸条的结果一致。因此,基于该试纸条可通过肉眼对沙丁胺醇判读检测结果。线性标准曲线如图 7c 所示,可以看出该试纸在 0~3.0 μg/L 范围内线性良好,可对沙丁胺醇进行定量检测。



(a) 试纸条检测结果



(b) 试纸条灰度扫描结果



(c) 线性标准曲线

图 7 沙丁胺醇试纸条的灵敏度结果和标准曲线

3.8 稳定性结果分析

为了验证该试纸条的稳定性,分别对不同质量浓度的沙丁胺醇进行测试,每个质量浓度重复 10 次,对比了试纸条为二抗体系和独立 C 线体系时的稳定性,见表 1 所列。

表 1 C 线采用二抗体系和独立 C 线体系的稳定性对比

体系	ρ(SAL)/ (μg/L)	RSD/%	
		C 线	T 线
羊抗鼠二抗	0	8.48	14.70
	1.0	18.40	10.20
	10.0	23.60	
独立 C 线	0	6.84	5.36
	1.0	5.95	7.32
	10.0	6.49	

二抗体系的实验方案与独立 C 线体系实验方案的唯一区别在于 C 线喷涂的是羊抗鼠二抗,

因此无需再去偶联独立 C 线抗体。由表 1 可知,二抗体系的试纸条 RSD 最小值为 8.48%,最大值为 23.60%,而独立 C 线体系的试纸条 RSD 均在 8% 以下,独立 C 线体系的试纸条稳定性更高,批间差更小。

3.9 特异性结果分析

为了探究该试纸对沙丁胺醇的选择性,对猪尿中其他可能存在的兽药的特异性进行对比,结果如图 8 所示。图 8 中:莱克多巴胺(RAC)、恩诺沙星(EF)、环丙沙星(CIFX)、克伦特罗(CL)质量浓度均为 100.0 $\mu\text{g/L}$;SAL 质量浓度为 5.0 $\mu\text{g/L}$;Mix 为上述几种的混合物;PBS 为阴性对照。从图 8a、图 8b 可以看出:含有沙丁胺醇的试纸只有 1 条 C 线,其他试纸都出现了 C、T 线,这与预期结果一致;当样品中含有沙丁胺醇时,峰值面积都为 0。图 8c 表明,该试纸条对沙丁胺醇具有良好的特异性。

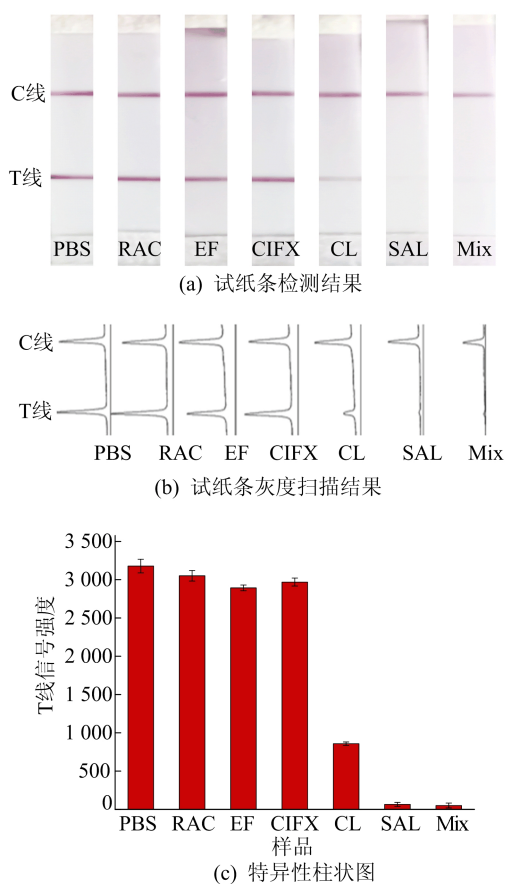


图 8 沙丁胺醇试纸条的特异性检测结果

3.10 实际样品检测结果分析

通过对尿样加标的方式对实际样品进行检测,结果如图 9 所示。

由图 9a 可知,随着沙丁胺醇质量浓度的升

高,试纸条 T 线逐渐变浅,直至质量浓度达到 5.0 $\mu\text{g/L}$ 时,T 线完全消失,这与上述标准品检测的灵敏度结果一致,说明该试纸条对沙丁胺醇具有良好的实际应用性。图 9b 也显示沙丁胺醇质量浓度为 5.0 $\mu\text{g/L}$ 时峰面积为 0,这与图 9a 试纸条结果一致。图 9c 表明,该试纸对实际样品检测在 0~5.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好,可对沙丁胺醇进行实际应用的定量检测。

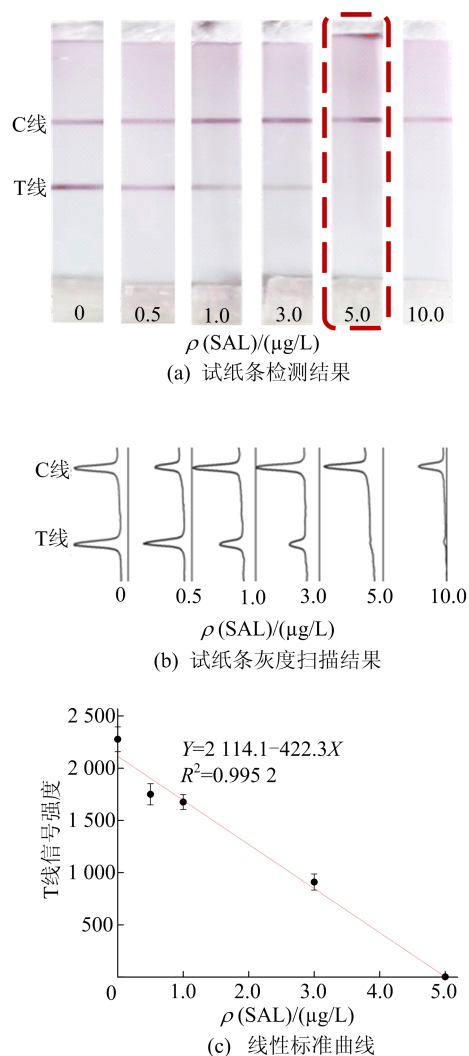


图 9 沙丁胺醇试纸条的尿样检测结果

4 结 论

沙丁胺醇在动物体内长期积累最终会通过食物链对人们造成不良反应,例如震颤、心率过快,严重者可导致高血压,因此需要建立一种方便、快捷的方法满足于现场即时检测。本文利用小分子竞争和独立 C 线的方法可在 5 min 内对沙丁胺醇达到 5.0 $\mu\text{g/L}$ 的检测限,且特异性良好。此方法避免了传统试纸条中 C 线强 T 线弱、C 线弱 T 线

强的现象,使得 C 线和 T 线之间独立,保证 C 线在各种条件下都保持一致的信号强度,不受分析物浓度的影响。经验证,该试纸条相比于传统试纸条,稳定性更好;且本文方法检测仅需 5 min,极大地满足了现场即时检测需求。

[参 考 文 献]

- [1] YAN K P, ZHANG H Q, HUI W L, et al. Rapid screening of toxic salbutamol, ractopamine, and clenbuterol in pork sample by high-performance liquid chromatography: UV method[J]. *Journal of Food & Drug Analysis*, 2016, 24(2): 277-283.
- [2] LIANG X W, ZHANG K, ZHANG J M, et al. Ractopamine residues in beef cattle hair during and after treatment[J]. *Journal of Analytical Toxicology*, 2016, 40(2): 153-158.
- [3] WU Y N, MIAO H, FAN S, et al. Determination of 23 β -agonists and 5 β -blockers in animal muscle by high performance liquid chromatography-linear ion trap mass spectrometry[J]. *Science China Chemistry*, 2010, 53(4): 832-840.
- [4] DING R, CHEN Y, WANG Q S, et al. Recent advances in quantum dots-based biosensors for antibiotics detection[J]. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2022, 12(3): 355-364.
- [5] ZHAI H Y, LIU Z P, CHEN Z G, et al. A sensitive electrochemical sensor with sulfonated graphene sheets/oxygen-functionalized multi-walled carbon nanotubes modified electrode for the detection of clenbuterol[J]. *Sensors and Actuators, B. Chemical*, 2015, 210: 483-490.
- [6] HE P L, SHEN L, LIU R Y, et al. Direct detection of β -agonists by use of gold nanoparticle-based colorimetric assays [J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(18): 6988-6995.
- [7] WANG J, SHE Y X, WANG M, et al. Multiresidue method for analysis of β agonists in swine urine by enzyme linked receptor assay based on β 2 adrenergic receptor expressed in hek293 cells[J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(9): e0139176.
- [8] CHEN R P, SUN Y F, HUO B Y, et al. Development of $\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{Au}$ nanoparticles coupled to $\text{Au} @ \text{Ag}$ core-shell nanoparticles for the sensitive detection of zearalenone[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1180: 338888.
- [9] WANG P L, WANG Z, SU X O. A sensitive and quantitative fluorescent multi-component immuno-chromatographic sensor for β -agonist residues [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 64: 511-516.
- [10] HUANG X L, AGUILAR Z P, XU H Y, et al. Membrane-based lateral flow immunochromatographic strip with nanoparticles as reporters for detection: a review[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2016, 75: 166-180.
- [11] NGOM B, GUO Y C, WANG X L, et al. Development and application of lateral flow test strip technology for detection of infectious agents and chemical contaminants: a review[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 397: 1113-1135.
- [12] PAROLO C, SENA-TORRALBA A, BERGUA J, et al. Tutorial; design and fabrication of nanoparticle-based lateral-flow immunoassays [J]. *Nature Protocol*, 2020, 15: 3788-3816.
- [13] ZHU J M, ZOU N L, MAO H J, et al. Evaluation of a modified lateral flow immunoassay for detection of high-sensitivity cardiac troponin I and myoglobin[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 42: 522-525.
- [14] OH H K, KIM K, PARK J, et al. Plasmon color-preserved gold nanoparticle clusters for high sensitivity detection of SARS-CoV-2 based on lateral flow immunoassay[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 205: 114094.
- [15] REN J, SU L H, HU H L, et al. Expanded detection range of lateral flow immunoassay endowed with a third-stage amplifier indirect probe[J]. *Food Chemistry*, 2022, 377: 131920.
- [16] SHU R, LIANG Y M, LIU S J, et al. "From food waste to food supervision"-cuttlefish ink natural nanoparticles-driven dual-mode lateral flow immunoassay for advancing point-of-care tests [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 219: 114807.

(责任编辑 闫杏丽)